

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月12日現在

機関番号：82502

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10303

研究課題名(和文) 軟線のがん放射線内用療法への適用性の検討

研究課題名(英文) Applicability of radionuclides emitting low energy beta for unsealed source radiotherapy

研究代表者

菊池 達矢 (Kikuchi, Tatsuya)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所 標識薬剤開発部・主幹研究員(定常)

研究者番号：90392224

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：がんの放射線内用療法では高エネルギーの $\beta$ -線や $\alpha$ -線を放出する核種が用いられている。しかしながらこれらの核種の利用においては、化合物や抗体への核種の導入や、体内安定性などの点で課題も多い。そこで本研究では、これらの課題を克服し得るものこれまで注目されてこなかった、比較的低エネルギーの $\beta$ -線を放出する $^{14}\text{C}$ を利用した放射線内用療法の可能性についてモデル化合物を用いて検討した。 $^{14}\text{C}$ 標識した2-アミノイソ酪酸を担がんマウスに投与したところ、投与量依存的にがんの増殖が顕著に抑制される一方、特に大きな副作用は観察されなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究結果は、 $^{14}\text{C}$ が放射線内用療法に適した非常に有望な放射性核種であることを初めて示した。 $^{14}\text{C}$ の物理的半減期が長いことにより正常組織への被ばくの増大が懸念されるが、腫瘍集積性が高く生物学的半減期の比較的短い化合物の使用や、 $^{14}\text{C}$ とほぼ同等のエネルギーを持つ $\beta$ -線を放出する比較的短半減期の $^{35}\text{S}$ を用いることなどにより、無用な体内被ばくを低減することが期待できる。 $^{14}\text{C}$ は様々な有機化合物にその化学構造を変化させずに導入可能であることから、柔軟な薬剤設計が可能となり、より良い放射線内用療法用の薬剤が開発されると期待される。

研究成果の概要(英文)：In the cancer therapy using radiopharmaceuticals, radionuclides that emits beta particles with high energy have traditionally been used. Recently, the application of radionuclides that emits alpha particles or auger electrons are investigated for the treatment of tumor. In the development of a radiopharmaceutical labelled with these radionuclides, we often encounter difficulties such as low labelling efficiency and low in vivo stability. These issues could be overcome by the use of  $^{14}\text{C}$ , a low energy beta emitter, although  $^{14}\text{C}$  have not been applied for this purpose. Here, the applicability of  $^{14}\text{C}$  for the cancer therapy was investigated. As a  $^{14}\text{C}$  carrier, 2-aminoisobutyric acid (AIB) that is stable in vivo and is highly accumulated in tumor was used. The growth of tumor was dramatically suppressed by the injection of [ $^{14}\text{C}$ ]AIB to tumor-bearing mice, although significant histological damages were not observed in the kidney and pancreas, in which [ $^{14}\text{C}$ ]AIB is highly accumulated.

研究分野：放射線科学

キーワード：放射線内用療法 軟線  $^{14}\text{C}$   $^{35}\text{S}$

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

がんは本邦における死因の第1位であり、死因の約30%を占める。また、欧米などにおいてもがんは死因の上位に位置することから、がんを対象とした種々の治療法が国内外を問わず精力的に研究されている。この治療法のうち、放射性核種を患者に投与することでがんを集積させ、がんの内部から放射線を照射する方法(放射線内用療法)は、特定のがんに対して非常に有効な治療法である。従来から高エネルギーの $\gamma$ 線を放出する $^{131}\text{I}$ を利用した放射線内用療法が行われており、最近では $^{131}\text{I}$ もしくは $^{90}\text{Y}$ を結合した抗体も使用されている。また、がんの骨転移における疼痛緩和を目的として、 $^{89}\text{Sr}$ や $^{153}\text{Sm}$ も利用されている。

このような高エネルギーの $\gamma$ 線を放出する核種の放射線内用療法への利用が推進される一方、微小がんに対しては、その長い飛程による正常組織への影響が懸念されることから、飛程の短いオージェ電子やさらにエネルギーの大きい $\alpha$ 線を利用した放射線内用療法の研究も現在推進されている。特に、転移性骨腫瘍に集積する $\alpha$ 線放出核種である $^{223}\text{Ra}$ は、 $^{89}\text{Sr}$ や $^{153}\text{Sm}$ などの $\gamma$ 線放出核種と異なり、疼痛緩和だけでなく生存期間の延長も示したことから、 $^{223}\text{Ra}$ と同様に、 $\alpha$ 線を放出する $^{211}\text{At}$ などの放射線内用療法への利用に注目が集まっている。

しかしながら、これらの放射性核種の放射線内用療法への利用促進には克服すべき課題も多い。 $^{131}\text{I}$ や $^{211}\text{At}$ などのハロゲン核種を導入した化合物の場合、生体における脱ハロゲン化反応が問題になることがある。実際、がんを集積するヌクレオシドのプリン塩基に導入したハロゲンは、グルタチオン抱合により速やかに遊離されることから、これらのハロゲン元素を取り込む甲状腺などの正常組織にダメージを与える可能性がある。また、金属核種を化合物に導入する際に用いるキレートなどは、母体化合物の化学構造を変化させ、そのがん集積性に影響を与える可能性がある。さらに $\alpha$ 線放出金属核種は安定核種になるまでに複数の壊変を経ることから、それらの子孫核種も安定的に結合できるキレートなどの開発が不可欠である。また、実務上の課題として $^{131}\text{I}$ や $^{153}\text{Sm}$ などは $\gamma$ 線も放出するので、医療従事者などの被ばく管理が重要になる。

### 2. 研究の目的

放射線内用療法をより発展させるうえでこのような個々の課題に対応した検討は重要であるが、報告者はこれらの課題が利用される核種に起因するものと考え、根本的な解決策としてハロゲンや金属以外の核種を利用するという着想に至った。報告者は、これまでの $^{14}\text{C}$ を利用した研究過程で、 $^{14}\text{C}$ の化合物への導入法や放出される $\beta$ 線の特性などに関する知見を蓄積してきた。 $^{14}\text{C}$ は半減期約5700年の $\beta$ 線放出核種であり $\beta$ 線のみを放出する。その $\beta$ 線の平均エネルギーと軟組織中での平均飛程はそれぞれ49 keVおよび39  $\mu\text{m}$ であり、生体組織中において $^{14}\text{C}$ から放出された $\beta$ 線のほとんどは、数個の細胞を貫く間にエネルギーを失う。単位飛程距離あたりに生体組織に与えるエネルギー(keV/ $\mu\text{m}$ )は、直接的作用によりDNAに損傷を与える可能性の尺度として用いられるが、 $^{14}\text{C}$ が放出する $\beta$ 線のその値は平均1.3 keV/ $\mu\text{m}$ であり、臨床利用されている $\alpha$ 線放出核種である $^{89}\text{Sr}$ (0.24)/ $^{90}\text{Y}$ (0.26)/ $^{131}\text{I}$ (0.45)よりも数倍高い。このことから、 $^{14}\text{C}$ を放射線内用療法に用いれば、正常組織への影響を抑えつつ、より多くの損傷をDNAに直接与え得ると考えられる。また $^{14}\text{C}$ を放射線内用療法に用いる場合、1)半減期が長いことから長期の保存が可能、2)プラスチックでも $\beta$ 線の遮蔽が可能、3) $\beta$ 線を放出しないことから医療従事者などの被ばくを低減、4)小さな分子でも化学構造の変更なしに導入可能、といった利点がある。さらに、微量ではあるが $^{14}\text{C}$ はヒトに投与して薬物の体内動態を追跡するマイクロドーズ臨床試験に利用されていることから、高容量の $^{14}\text{C}$ の臨床利用に対する制度上の垣根も比較的低いと期待できる。

$^{14}\text{C}$ や $^{14}\text{C}$ とほぼ同等のエネルギーを持つ $\beta$ 線を放出する $^{35}\text{S}$ の放射線内用療法への利用には上述のような利点や効果が考えられるものの、これらの核種を本治療法に利用した報告は無い。 $^{14}\text{C}$ の長い物理的半減期がその利用を躊躇させている可能性があるが、生物学的半減期の比較的短い化合物を用いれば無用な体内被ばくを低減することができる。 $^{14}\text{C}$ や $^{35}\text{S}$ は従来から様々な化合物に導入されており、本治療法に適した化合物の柔軟な設計を可能にすると期待できる。また、抗体のような高分子化合物であれば、技術的には1抗体あたりに相当多量の $^{14}\text{C}$ を導入できると考えられ、本課題により $^{14}\text{C}$ や $^{35}\text{S}$ の利用が放射線内用療法に有効であることが示されれば、本治療法の更なる発展が期待できる。

そこで、本研究課題ではアミノ酸誘導体の腫瘍における動態に関するこれまで知見に基づき、代謝的に安定で腫瘍への集積性が高い2-アミノイソ酪酸の $^{14}\text{C}$ 標識体( $^{14}\text{C}$  AIB)をモデル化合物として、 $^{14}\text{C}$ が放出する $\beta$ 線による腫瘍の成長抑制効果を検討した。また、放射線内用療法を実施するうえでは、用いる放射性医薬品の治療対象とするがんへの集積性を事前に検討し、本治療法の適否や、投与量の最適化を個別に検討することが望まれる。これに対し、放射線内用療法用の放射性医薬品と同一の化学構造を持つポジトロン放出核種が導入された標識化合物があれば、ポジトロン断層撮像法により事前検査を行うことが可能になると考えられる。実際、 $^{90}\text{Y}$ 標識CD20抗体(ゼヴァリン)を用いた低悪性度B細胞性非ホジキンリンパ腫の放射線内用療法では、患者に対し事前に $^{111}\text{In}$ 標識のCD20抗体を投与して、その有効性を検討したうえで $^{90}\text{Y}$ 標識CD20抗体を用いた治療が行われる。そこで、 $^{14}\text{C}$  AIBのようなアミノ酸誘導体の構造などにポジトロン核種を導入するのに有用な標識前駆体である $^{11}\text{C}$  HCHOおよび $^{11}\text{C}$  HCNの簡便な製造法の検討を行った。

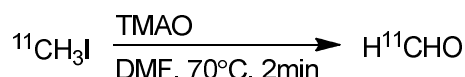
### 3. 研究の方法

#### (1) [<sup>14</sup>C]AIB の腫瘍増殖抑制効果の検討

ヌードマウス (BALB/c nu/nu) の後肢皮下に SY 細胞を移植した担がんマウスを作成し、<sup>14</sup>C]AIB 投与後の腫瘍の成長および体重変化を観察した。<sup>14</sup>C]AIB の投与量は、7.4 MBq および 18.5 MBq とし、対照群においては 18.5 MBq の<sup>14</sup>C]AIB に相当する物質質量 (9 μmol) の非標識 AIB を投与した。また、18.5 MBq の<sup>14</sup>C]AIB を投与したマウスについて、投与 15 日後および 21 日後に解剖を行ない、<sup>14</sup>C]AIB が高い集積を示す腫瘍、膵臓および腎臓の組織切片を作成し、各臓器における組織障害をヘマトキシリン・エオジン染色により観察した。

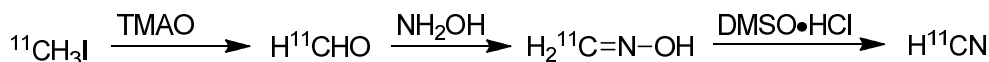
#### (2) [<sup>11</sup>C]HCHO の簡便な合成法の検討

<sup>11</sup>C]HCHO は、<sup>11</sup>C 標識に最もよく用いられる [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>I をトリメチルアンモニウム N-オキソド (TMAO) と N,N-ジメチルホルムアミド (DMF) 中で反応させることで効率良く得られることが報告されていた (下図、Hooker *et al.*, *Angew Chem Int Ed.* 2008)。しかしながら、報告者の初期検討において、報告されている反応条件では収率が低いことが分かった。そこで、<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>I と TMAO との反応における溶媒の種類および TMAO の量について最適な条件を検討した。反応時間は 1 分もしくは 2 分で行なった。



#### (3) [<sup>11</sup>C]HCN の簡便な合成法の検討

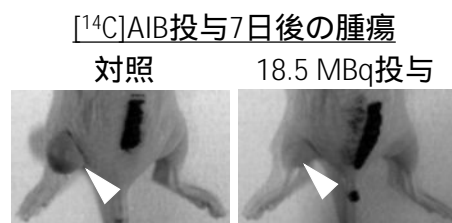
<sup>11</sup>C]HCN は、<sup>11</sup>C]CH<sub>4</sub> をアンモニアガスと共に 900 以上に熱した白金を通すことで得られるが、そのためには<sup>11</sup>C]HCN 製造専用の装置や設備が必要である。そこで、<sup>11</sup>C 標識に最もよく用いられる [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>I から得られる<sup>11</sup>C]HCHO を経由した製造法を検討した。アルデヒドをヒドロキシルアミン塩酸塩とジメチルスルホキシド (DMSO) 中で反応させることで対応するニトリルが生成することが知られていることから (Augustine *et al.*, *Synlett.* 2011)、本反応を<sup>11</sup>C]HCHO に適用し (下図) 反応温度、反応時間、酸触媒の添加量などについて検討した。



### 4. 研究成果

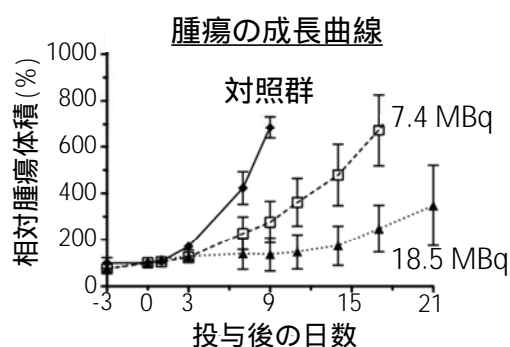
#### (1) [<sup>14</sup>C]AIB の腫瘍増殖抑制効果の検討

<sup>14</sup>C]AIB を担がんマウスに投与すると、投与量依存的に腫瘍の成長は顕著に抑制された (右図)。その効果は非放射性的 AIB 投与群との差であることから、その効果は線によるものと考えられた。また、体重減少は腫瘍の増殖抑制効果が認められる投与量においても一過性であった。AIB が高集積する膵臓および腎臓に障害は観察されなかったが、腫瘍においては明らかな繊維化が観察された。以上の結果は、<sup>14</sup>C が放射線内用療法に有用な放射性核種であることを示した。



#### (2) [<sup>11</sup>C]HCHO の簡便な合成法の開発

以前の報告では、<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>I と TMAO との反応から<sup>11</sup>C]HCHO を得るのに最適な溶媒は DMF とされていたが、本検討から DMSO がより適した溶媒であることが分かった。300 μL の DMSO 中、2 mg 以上の TMAO を<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>I と 60 以上で 2 分反応させることで、80% 以上の収率で<sup>11</sup>C]HCHO を得た。さらに、TMAO の DMSO 溶液に過熱下で<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>I を通じることによって気体の<sup>11</sup>C]HCHO を純度良く得ることもできた。気体状態の<sup>11</sup>C]HCHO を簡便に得ることが可能になったことにより、<sup>11</sup>C]HCHO を用いる標識反応において任意の溶媒の選択を可能にし、また TMAO の影響を除いた反応の実施が可能になった。



#### (3) [<sup>11</sup>C]HCN の簡便な合成法の開発

上記 (2) の研究結果から、DMSO 中で<sup>11</sup>C]HCHO を発生させることが可能であることが判明したことから、これに 200 μL の DMSO に溶解した 2 当量のヒドロキシルアミン塩酸塩と 50 μL の 4M 塩酸/ジオキサン溶液を加え、90 以上で加熱することで収率良く<sup>11</sup>C]HCN が生成した。しかしながら、窒素気流下での過熱による生成した<sup>11</sup>C]HCN の回収率は低かった。この低い回収率の原因には、触媒として加えた塩酸の揮発を極力抑えるために添加した塩基性水溶液による<sup>11</sup>C]HCN の加水分解や、TMAO との水素結合などが考えられる。今後、TMAO を含まない系や塩酸などの揮発性物質を用いない系での検討が必要と考えられる。

## 5 . 主な発表論文等

[学会発表](計3件)

菊池達矢, Sulfate conjugation of [ $^{11}\text{C}$ ]PBB3, a Tau imaging agent, in the brain., The XIIth International Symposium of Functional Neuroreceptor Mapping of the Living Brain., 2018

菊池達矢, [ $^{11}\text{C}$ ]CH<sub>3</sub>I 経由の [ $^{11}\text{C}$ ]HCN の簡便な合成法の開発, 第 57 回日本核医学会学術総会, 2017

菊池達矢, A preliminary study of facile [ $^{11}\text{C}$ ]cyanide preparation from [ $^{11}\text{C}$ ]methyl iodide., The 22nd International symposium on radiopharmaceutical science., 2017